

dr hab. inż. Marek Tobiszewski, prof. PG
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Gdańska
marek.tobiszewski@pg.edu.pl

Gdańsk 01.09.2026

Recenzja

rozprawy doktorskiej mgr Marty Gawęł zatytułowanej „Zastosowanie chromatografii cieczowej sprzężonej z różnymi trybami detekcji do oznaczania wybranych małowymiarowych związków siarki”

Praca doktorska mgr Marty Gawęł „Zastosowanie chromatografii cieczowej sprzężonej z różnymi trybami detekcji do oznaczania wybranych małowymiarowych związków siarki” została zrealizowana w Katedrze Chemii Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Rozprawa została przygotowana pod promotorstwem prof. dr hab. Rafała Głowackiego oraz dr hab. Justyny Piechockiej, prof. UŁ., w zespole zajmującym się tematyką analityki próbek biologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem etapu przygotowania próbki oraz zastosowania techniki HPLC. Za cel pracy Doktorantka postawiła opracowanie procedur analitycznych, służących do oznaczania związków siarki (zwłaszcza HPPTCA) w próbkach płynów biologicznych oraz owoców. Istnieje niewiele narzędzi analitycznych służących do oznaczania wyżej wymienionych związków w tego typu próbkach. Ponadto chemizm i znaczenie związków z grupy tioli w układach biologicznych jest jeszcze niecałkowicie poznany. Wybrana tematyka badawcza i postawione cele badawcze są zatem trafne i istotne.

Doktorantka stawia cztery cele szczegółowe, dzięki realizacji których ma osiągnąć cel nadrzędny, jakim jest opracowanie nowych narzędzi analitycznych do oznaczania związków siarki w nietłuczonych matrycach próbek. Celami szczegółowymi są opracowanie etapu przygotowania próbki, optymalizacja parametrów procesu rozdzielania chromatograficznego, walidacja opracowanych

procedur oraz ich zastosowanie w analizie próbek rzeczywistych. Mogę z pełnym przekonaniem stwierdzić, że wszystkie cele szczegółowe, a co za tym idzie i cel główny, zostały zrealizowane.

Praca została przedstawiona w postaci cyklu czterech publikacji, wyczerpującego opisu towarzyszącego oraz maszynopisów dwóch prac jeszcze nieopublikowanych. Przedstawione w cyklu prace są trójjautorskie, jedna z nich jest czteroautorska, w każdej pracy Doktorantka jest pierwszą autorką. Oświadczenia załączone na końcu rozprawy wskazują na znaczący wkład Doktorantki w badania naukowe, będące podstawą powstałych prac. Istotny udział Doktorantki w przedstawionych pracach jest więc bezdyskusyjny.

Praca [D1] stanowi przegląd literatury. Doktorantka podsumowuje chemizm tiazynowych pochodnych aldehydów i cysteiny, dużo uwagi skupia również na procedurach analitycznych. Podkreśla znaczenie wybranych związków jako markerów chorób. Dokonanie takiego podsumowania wiedzy przed przystąpieniem do właściwych prac badawczych uważam za zasadne.

Praca [D2] to również podsumowanie dotyczące znaczenia superowoców oraz technik oznaczania związków biologicznie aktywnych w tego typu próbkach. Mam zastrzeżenie do użytego słowa „antyoksydanty”, zamiast którego powinno być użyte właściwe dla języka polskiego słowo „przeciwutleniacze”. Uważam również za nieuzasadnione mówienie o ekstrakcji w układzie ciecz-ciecz w przypadku przygotowania próbek owoców.

Doktorantka opracowała również procedurę oznaczania HPPTCA w próbkach osocza krwi [D3]. Bardzo istotnym jest fakt, że do tej pory w literaturze opublikowane zostały jedynie dwie procedury. Procedura charakteryzuje się podobnymi parametrami metrologicznymi co dwie wcześniej opracowane i opublikowane. Znaczącym ulepszeniem jest natomiast skrócenie czasu analizy do ~25 minut, w porównaniu do ~160 i ~345 minut wcześniejszych procedur. Inną mocną stroną jest nieskomplikowany etap przygotowania próbki, który opiera się o ekstrakcję z użyciem niewielkiej objętości acetonitrylu, usunięcie białek oraz rozcieńczenie próbki. Kolejną zaletą jest krótki czas analizy chromatograficznej, co wpływa na potencjalnie wysoką przepustowość opracowanej procedury analitycznej. Ważnym aspektem jest brak etapu upochadniania, co ogranicza liczbę operacji przygotowania próbki, a także na ocenioną przy pomocy narzędzia AGREE zieloność opracowanej procedury. Zastosowanie 4-DPD jako wzorca wewnętrznego pozwoliło na ograniczenie efektów matrycowych. *Doktorantka nie do końca natomiast wyjaśnia w jaki sposób dokonała doboru*

tego związku jako wzorca. Według niektórych doniesień literaturowych związek ten występuje w osoczu krwi (np. 10.1016/S0009-8981(98)00173-9).

Kolejnym zagadnieniem badawczym, którym zajęła się Doktorantka jest opracowanie procedury analitycznej do oznaczania tiolaktonu homocysteiny w próbkach moczu ludzkiego z zastosowaniem HPLC-UV [D4]. Znaczącym elementem nowości naukowej jest zastosowanie spektrofotometrycznego detektora, który zazwyczaj jest znacznie łatwiej dostępny w laboratoriach analitycznych, zwłaszcza zajmującymi się rutynową analizą, niż spektrometr mas. Ważnym elementem pracy jest dobranie odpowiedniego odczynnika upochadniającego – bromku 1-benzylo-2chloropirydyniowego, w celu obniżenia granicy wykrywalności. Po opracowaniu koncepcji, Doktorantka procedurę poddała procesowi doboru optymalnych parametrów, poddała walidacji, ocenie zieloności oraz poddała analizie serię próbek rzeczywistych. Opracowana procedura charakteryzuje się zminiaturyzowanym przygotowaniem próbki, krótką analizą chromatograficzną a co za tym idzie została określona jako raczej zielona. *Na etapie ekstrakcji Doktorantka wykorzystuje chloroform, w jaki sposób został on dobrany? Czy można zastosować bardziej zielony zamiennik? Oznaczone stężenie HTL w osiemnastu próbkach rzeczywistych mieści się w zakresie 0,037 – 0,69 $\mu\text{mol/L}$. Jak ten zakres wartości się ma do wyznaczonego LOQ? Ponadto, jeśli w tabeli 3 przedstawiono wartości średnie oznaczeń HTL dla trzech powtórzeń, to wartość średnia stężenia powinna zostać uzupełniona o niepewność. Czy uprawniony jest zapis stężenia jako 0,00 $\mu\text{mol/mol}$?*

Doktorantka opracowała również procedury analityczne, oparte o technikę HPLC-UV służące do oznaczania form zredukowanych oraz całkowitej zawartości tioli w próbkach owoców jagodowych. Praca stanowi materiał jeszcze nieopublikowany [D5]. Opracowanie tych dwóch komplementarnych procedur jest bez wątpienia nowością naukową, wartością jest zastosowanie detekcji spektrofotometrycznej. Etap przygotowania próbki nie jest szczególnie skomplikowany. Pewną trudność w interpretacji uzyskanych wyników stwarza niekonsekwentne stosowanie jednostek. *Wartość LOQ wyrażona jest w $\mu\text{mol/mol}$ (mol superowocu?), natomiast wartości oznaczeń tioli w próbkach rzeczywistych wyrażono w $\mu\text{g/g}$ próbki owocu jagodowego. W opisie towarzyszącym opisowi został umieszczony niefortunny termin „całkowita zawartość wybranych tioli”. Zastanawiam się nad efektem matrycowym, związanym z analizą różnych jagód. Czy Doktorantka jest w stanie znaleźć wytłumaczenie zależności pomiędzy składem matrycy próbki a wielkością efektów matrycowych? Dla jakiej matrycy wyznaczono parametry walidacyjne, przedstawione w tabelach 1 oraz 2?*

Doktorantka opracowała też procedurę, służącą do oznaczania tioli w próbkach owoców jagodowych, z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas [D6]. Ta procedura jest również dedykowana do oznaczania zredukowanych form oraz całkowitej zawartości tioli. Praca stanowi materiał poddawany procesowi redakcyjnemu [D6]. Przygotowanie próbki jest podobne jak w pracy [D5], natomiast na etapie oznaczania końcowego Doktorantka zdecydowała się zastosować technikę HPLC-ESI-MS/MS. Jest to pierwsza opracowana procedura analityczna, oparta o tę technikę, do oznaczania tioli. Zastosowanie detekcji MS pozwoliło na znaczne obniżenie wartości granic oznaczalności w stosunku do podejścia prezentowanego w pracy [D5]. *Zastanawiającym jest dlaczego wartości granic oznaczalności wyrażone zostały w mol/L.* Doktorantka powinna zwrócić również uwagę na zapis wyników oznaczeń tioli w próbkach rzeczywistych, w szczególności na ilość cyfr znaczących w wartościach odchylenia standardowego.

Kwestią do przedyskutowania jest stosowanie przez Doktorantkę terminu „całkowita zawartość tioli”. Całkowitą zawartość węgla (parametr ogólny węgiel organiczny) czy zawartość chlorowca oznacza się poprzez mineralizację i oznaczenie zawartości odpowiedniego pierwiastka. Natomiast w podejściu zaproponowanym przez Doktorantkę wyznaczane są stężenia poszczególnych związków z grupy tioli. Czy nie bardziej poprawne byłoby stwierdzenie „oznaczanie zawartości związków z grupy tioli”?

Temat pracy również wydaje się być nie całkiem poprawny nomenklaturowo. Sprzęga się dwie techniki, z których każda oferuje możliwość identyfikacji związków chemicznych. Poprawnym zatem jest zwrot „chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas”, natomiast w przypadku detekcji UV takie sformułowanie nie jest poprawne, gdyż detektor UV takiej możliwości nie posiada. Zatem stwierdzenie o sprzężeniu HPLC z różnymi trybami detekcji, jakie stosowała Doktorantka, jest niepoprawne.

Przewodnik po publikacjach został napisany poprawnym, przystępnym i jednocześnie naukowym językiem. Nasuwają się jednak pewne uwagi językowe, które mogą się okazać pomocne przy przygotowaniu kolejnych opracowań:

- zamiast „substancje interferujące” powinno być „substancje przeszkadzające”,
- zamiast „herbicydy i pestycydy” powinno być „pestycydy”, gdyż herbicydy należą do grupy pestycydów,
- zamiast „zateżnianie próbek” powinno być „wzbogacanie analitów w próbce”,

- zamiast „tiele całkowite” powinno być „całkowita zawartość tioli” (w niektórych miejscach w pracy stosowany termin poprawny),
- zamiast „wiarygodne metody oznaczania” powinno być „miarodajne metody oznaczania”,
- zamiast „oznaczany analit” powinno być „analit” lub „oznaczany związek”,
- zamiast „środowisko naturalne” powinno być „środowisko”,

Zawarte w tekście recenzji komentarze i zapytania, jak i uwagi językowe mają charakter pomniejszy i nie wpływają znacząco na moją pozytywną ocenę pracy. Doktorantka sformułowała naukowy i ambitny problem badawczy, dobrała odpowiednie narzędzia do jego rozwiązania i w sposób poprawny osiągnęła postawione cele badawcze. Praca doktorska Pani mgr Marty Gawęł wykazuje elementy nowości i oryginalności naukowej. Rozprawa spełnia wymogi stawiane tego typu pracom, określone w art. 183 Ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 2018 roku. Dlatego też z pełnym przekonaniem wnoszę od Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie mgr Marty Gawęł do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.